

© ШИЛИН В.Е., 2010

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

ШИЛИН В.Е.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;
кафедра клинической лабораторной диагностики*

Резюме. Разработана тест-система «ИД-ЭНТЕР» для идентификации энтеробактерий, которая включает 24 теста на расщепление дегидрированных субстратов с добавленным индикатором и хромогенных субстратов, после внесения микробной взвеси. Для учета результатов в автоматическом режиме в качестве ридера адаптирован фотометр, изготовленный на РУПП «Витязь» (Ф300), для определения цвета пробы. С целью идентификации энтеробактерий разработана и зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности программа NewId многомерной статистики с применением кластерного анализа, которая обеспечивает полное совпадение результатов в сравнении с программным обеспечением «BioMerieux» с точностью до рода и вида – 97%.

Программа NewId позволяет создать автоматизированное рабочее место микробиолога, включающее в себя фотометр, адаптированный для анализа результатов по цвету пробы в автоматическом режиме и персональный компьютер.

Ключевые слова: энтеробактерии, тест-система.

Abstract. We have designed the test-system “ID-ENTER” for identification of enterobacteria which includes 24 tests for cleavage of dehydrated substrates with the addition of indicator and chromogenic substrates after putting in the microbial suspension. We used the plain photometer “Vityaz” (F300) in automated regimen as a reader for the detection of results (i.e., for determination of samples colour). We have also worked out and registered in the National Center of Intellectual Property the program NewID for the purpose of identification of enterobacteria; it uses cluster analysis which enables full identity (about 97%) of testing results with those produced by «BioMerieux» software (up to genus and species).

The program NewID allows to create microbiologist’s automated working place including photometer adapted for automated results analysis according to sample colour and a personal computer.

Одной из важнейших мировых проблем современного здравоохранения является инфекция в хирургии. Актуальность этой проблемы определяется широким распространением хирургической инфекции, значительным социальным и экономическим ущербом, наносимым ею. Количество смертельных случаев в общей структуре летальности в хирургических стационарах в связи с инфекционными осложнениями достигает 42-60%. В настоящее время послеоперационные

гнойные осложнения развиваются в среднем у 30% больных. Хирургические инфекции увеличивают сроки временной нетрудоспособности, удлиняют время пребывания в стационаре, значительно ухудшают результаты оперативного лечения. В Республике Беларусь ежегодно регистрируется более 70 тысяч больных с гнойно-воспалительными заболеваниями и осложнениями, экономический ущерб составляет более 100 млрд. белорусских рублей [1, 16, 18].

Наиболее частыми возбудителями гнойно-септических инфекций в Республике Бе-

Адрес для корреспонденции: г. Витебск, пр-т Победы, 21-3-36, тел: 22-97-81. – Шилин В.Е.

ларусь в настоящее время, по данным целого ряда исследований, являются микроорганизмы – представители рода *Staphylococcus* – 28,8%. Более скромное место занимают *E.coli* – 17,7%, *Streptococcus spp.* – 6,3%, кандиды – 5,8%, *Enterobacter spp.* – 4%, *Pseudomonas spp.* – 3,9%, *Citrobacter spp.* – 3,5%, *Klebsiella spp.* – 3,3% [6]. Из стафилококков в хирургических стационарах преимущественно выделяются *S.aureus* – 61,7%, а реже таких представителей КОС, как *S.epidermidis* – 28,2% и *S.saprophyticus* – 10,1% [7].

Еще одной проблемой являются бактериальные кишечные инфекции. В общей структуре ведущее место принадлежит дизентерии и сальмонеллезу [3]. В последние годы во многих странах зарегистрирован резкий подъем заболеваемости населения сальмонеллезом, связанный с увеличением значимости птицепродуктов в качестве ведущих источников и факторов передачи возбудителя [10]. Кроме того, в конце XX века на отдельных территориях Республики Беларусь вновь повысилась заболеваемость сальмонеллезом, приведшая к значительным экономическим потерям и росту летальности от этого заболевания.

В этой связи, большое значение имеет быстрая и достоверная микробиологическая диагностика гнойно-воспалительных и инфекционных заболеваний, вызванных грамотрицательными микроорганизмами. Многие ферменты микроорганизмов часто являются маркерами данных штаммов возбудителей. Это может быть использовано для их идентификации, а отсутствие методов определения отдельных видов энзимной активности обуславливает необходимость их разработки и совершенствования [6, 15].

В повседневной микробиологической практике безошибочная идентификация микроорганизмов остается одной из сложных задач. Решение этой задачи возможно через тестирование целого спектра биологических и биохимических характеристик микроорганизма. Перечень этих тестов, приведенных в международном определителе Берджи, оказывается достаточно широк, что существенно усложняет процедуру идентификации и делает ее чрезвычайно трудоемкой [11].

Постоянное расширение традиционно-го перечня видов возбудителей, которые могут быть выделены в настоящее время от пациентов с гнойно-септической патологией, а также развитие и усложнение системы классификации микроорганизмов с широкой палитрой используемых тестов сделали практически невозможным применение традиционной ручной техники идентификации с приготовлением всех необходимых сред в самой лаборатории.

В настоящее время в практике врача-бактериолога в программах для автоматизированного учета результатов используется нумерический подход (вид микроорганизма определяется по совокупности определенного числа признаков, т.е. наличию или отсутствию их). Недостатком такого подхода является тот факт, что определяемыми для этих целей признаками одновременно могут обладать (или не обладать) представители нескольких видов, причем даже внутри одного вида могут встречаться представители с противоположными градациями признака [11, 16, 17].

Использование в программе для автоматизированного учета многомерной статистики представляется более прогрессивным. Преимуществом такого подхода является то, что система многомерной статистики для идентификации микроорганизмов вместе с совокупностью признаков определяет и их значимость [9, 11]. Поэтому, несомненно, важна разработка тест-систем с возможностью автоматизированного учета с использованием новых алгоритмов для идентификации микроорганизмов.

Зарубежные фирмы, среди которых следует назвать Becton Dickinson, Abbott Diagnostics, Difco/Pasco Laboratories, Roche Diagnostics, Vitek Systems, BioMerieux, производят основную часть современного оборудования и материалов для микробиологических лабораторий. Скромность финансовых возможностей большинства лечебных учреждений заставляет ограничиваться приобретением лишь части сложного оборудования, минимальным набором современных средств бактериологических исследований и тест-систем для идентификации и определения чувствительности к антибиотикам. Так как тест-системы

импортного производства являются весьма дорогостоящими, что ограничивает их применение в отечественных бактериологических лабораториях, возникает необходимость разработки тест-систем отечественного производства [4, 13, 14].

Целью наших исследований является разработка тест-системы и алгоритма на основе многомерной статистики для идентификации энтеробактерий с использованием компьютерной программы для учета результатов в автоматическом режиме.

Методы

Для апробации созданных нами тест-систем «ИД-ЭНТЕР» использовались штаммы, полученные на базе бактериологической лаборатории Республиканского научно-практического центра «Инфекция в хирургии» в период с 2006 по 2010 г. В качестве материала для идентификации использовали хорошо изолированную колонию на чашке или чистую культуру в пробирке, из которой готовили суспензию на физрастворе в концентрации стандарта оптической плотности 0,5 McFarland. Затем раствор суспензии вносили в лунки со средами (субстратами) соответствующей тест-системы в объеме 55 мкл. и инкубировали 24 часа при 37°C. Учет осуществлялся на автоматизированном биохимическом анализаторе ATB Expression фирмы «bioMérieux». Для идентификации использовали стрипы фирмы «bioMérieux»: ID 32 E – для энтеробактерий. Кроме того, применялись системы для экспресс-идентификации энтеробактерий rapid ID 32 E [5, 15].

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием компьютерной программы STATGRAPHICS PLUS.

Результаты исследования

Для создания тест-системы с автоматизированным учетом результатов необходимо иметь планшет для постановки тестов и ридер. Создать специализированный ридер в наших условиях не представляется возможным, а предпочтительнее использовать уже имеющийся прибор, работающий с планшетами. Использование планшета значительно

сокращает количество расходных материалов и, в отличие использования пробирок для постановки тестов, предоставляет возможность одновременного анализа нескольких тестов при одном измерении. Поскольку иммуноферментный анализатор АИФ-М/340, Ф300, изготовленный на РУПП «Витязь», имеется во многих лабораториях, имеет соответствующий сертификат и занесен в Национальный реестр средств измерения Республики Беларусь, а также России и Украины, но служит для определения оптической плотности (ОП), мы адаптировали его для анализа результатов по изменению цвета пробы, а в качестве планшета для тестов использовали обычный 96-луночный планшет для ИФА.

Так как для анализа результатов по цвету пробы требуется проводить не абсолютный анализ цвета раствора, а относительный, т.е. сравнение цвета пробы с эталоном, то за счет правильно выбранных эталонов и их разнообразия можно компенсировать погрешность воспроизведения цвета при использовании прибора с небольшим количеством спектральных составляющих. В этом случае большая часть нагрузки по адаптации такого прибора для анализа результатов по цвету пробы переносится на программное обеспечение, а не на аппаратную часть. Это предпочтительнее, так как программное обеспечение, спроектированное один раз, будет совместимо со всеми поколениями приборов.

Для решения задачи определения цвета пробы (соответствует эталону или нет) возможно использование результатов измерений на семи фиксированных длинах волн: 405 нм, 450 нм, 492 нм, 540 нм, 570 нм, 620 нм, 690 нм.

Данные о возможных цветах в каждом конкретном тесте с использованием индикатора для положительной и отрицательной реакции формируются на этапе программирования методики.

Согласно закону Г. Грассмана, при данных условиях основные цвета производят в смеси одинаковый визуальный эффект, независимо от их спектрального состава, по кривым сложения цветов можно определить координаты цвета сложного излучения. Для этого сначала цвет последнего представляют в

виде суммы чистых спектральных цветов, а затем определяют количества основных цветов, требуемых для получения смеси, зрительно неотличимой от исследуемого цвета [2].

$$X = T1 \cdot 0.025 + T2 \cdot 0.3362 + T3 \cdot 0.025 + T4 \cdot 0.2904 + T5 \cdot 0.7621 + T6 \cdot 0.8544 + T7 \cdot 0.0227;$$
$$Y = T1 \cdot 0.006 + T2 \cdot 0.038 + T3 \cdot 0.28 + T4 \cdot 0.954 + T5 \cdot 0.952 + T6 \cdot 0.381 + T7 \cdot 0.0082;$$
$$Z = T1 \cdot 0.08 + T2 \cdot 1.7721 + T3 \cdot 0.45 + T4 \cdot 0.0203 + T5 \cdot 0.0021 + T6 \cdot 0.0002 + T7 \cdot 0;$$

Где $T1..T7$ – коэффициенты пропускания вещества соответственно на длинах волн 405 нм, 450 нм, 492 нм, 540 нм, 570 нм, 620 нм, 690 нм.

После измерения получаем цвет пробы. Этот цвет последовательно сравнивается со всеми эталонами до первого совпадения. В случае ни одного совпадения проба расценивается как «?».

В тестах, где определяется не цвет пробы, а ее оптическая плотность: если $ОП \geq 0.25$ оп. ед., проба расценивается как положительная, если $ОП < 0.25$ оп. ед. – отрицательная.

На основе анализа существующих литературных источников проведена работа по отбору тестов, входящих в тест-систему. Нами создана тест-система «ИД-ЭНТЕР», предназначенная для биохимической идентификации микроорганизмов семейства энтеробактерий. Тест-система включает:

- стандартный планшет, содержащий 96 лунок с высушенными питательными средами и субстратами для 24 тестов с добавленным индикатором феноловым красным для: определения уреазной активности – субстрат мочевины; утилизации L-арабита, галактуроновой кислоты, маннита, мальтозы, сахарозы, арабинозы, D-арабита, глюкозы, трегалозы, рамнозы, инозита, адонитола, палатинозы, целлобиозы, сорбитола, ксилозы, дульцита, натрия малоната и выработки индола; определения активности соответствующих ферментов с использованием хромогенных субстратов без добавления индикатора: глюкозаминидазной активности – субстрат 4-нитрофенил-N-ацетил- α D-глюкозаминид, глюкозидазной активности – субстрат 4-нитрофенил- α D-глюкопиранозид, α - и β -галактозидазной активности – субстраты 4-нитрофенил- β D-га-

лактопиранозид, 4-нитрофенил- β D-галактопиранозид.

- стерильный раствор хлорида натрия с массовой долей 0,9%, объем 5 мл, в ампуле – 4 шт.;

- наконечники полипропиленовые стерильные для автоматических дозаторов вместимостью 200 мкл – 4 шт.;

- стандартный образец оптической плотности 0,5 оптических единиц, объем 4 мл (*McFarland*) – 1 шт. (по заказу на все наборы);

- + ИНД – один флакон (дополнительный реагент для учета теста выработки индола).

Для идентификации вносим в физиологический раствор штамм исследуемой бактерии (суточная культура) и доводим взвесь до 0,5 оптических единиц *McFarland*. В лунки планшета вносим 150 мкл полученной бактериальной взвеси и инкубируем в термостате 18-24 часа. Учет результатов производится по изменению цвета пробы за счет сдвига pH среды. Всего планшет позволяет идентифицировать четыре штамма микроорганизмов.

Нами разработана, совместно с ВТЗ «Витязь», программа NewId многомерной статистики с использованием кластерного анализа, предназначенная для использования в области медицины для идентификации микроорганизмов по их субстратному профилю. На этапе программирования каждой лунке стандартного 96-луночного планшета ставится в соответствие фермент из предварительно сформированной таблицы, а также задается цвет, ожидаемый в случае положительной или отрицательной реакции. Цвет определяется используемым индикатором. Разработанная программа позволяет по результатам ферментативных реакций определять видовую принадлежность микроорганизмов.

Для установки программы NewId требуется IBM совместимый компьютер с ОС Windows 9x либо NT. Инсталлированный программный пакет занимает на жестком диске объем около 9 мегабайт. При работе программы создаются и уничтожаются временные файлы, для которых на диске должно быть зарезервировано место не менее 200 килобайт.

В процессе работы с программой пользователь накапливает на жестком диске

информацию: данные об исследованных планшетах, параметры введенных методик. Объем свободного дискового пространства для этой информации (а также для создания резервных копий) зависит от ее количества и времени накопления.

Программный продукт написан в среде Delphi3.0 компании Borland. Все данные хранятся на диске в виде таблиц типа Paradox. Инсталляционная версия программного продукта создана при помощи интегрированной дистрибутивной системы Express InstallShield3 и включает в себя компакт-диск.

Работа с таблицами осуществляется при участии низкоуровневого ядра баз данных Borland Database Engine (BDE). В состав поставляемой версии NewId входит утилита BDEAdmin.exe, запуск которой позволяет в случае необходимости перенастраивать пути к рабочим таблицам. Программа NewId зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности (№ 015, от 13.02.2008).

В качестве статистического метода для решения поставленной задачи в программе NewId выбран кластерный анализ. Смысл его сводится к классификации многомерных наблюдений, каждое из которых описывается набором признаков, используя меру сходства (r) или расстояние между объектами (D). При этом учитываются все признаки одновременно. В качестве расстояния между объектами выбрано евклидово расстояние. Применительно к разработанной нами программе это означает следующее.

В качестве многомерных наблюдений в разработанной программе используются данные из таблиц определителя бактерий Берджи [5, 15], в которых каждый микробный вид – это отдельное наблюдение (кластер), а набор признаков (24 биологические характеристики микроорганизма) – числовые значения вероятности наличия соответствующего признака. Эти наблюдения образуют множество эталонных точек в 24-мерном пространстве. Объекты, которые по набору признаков «похожи» друг на друга, принадлежат к одному кластеру. Критерием сходства и различия кластеров является расстояние между точками в

24-мерном пространстве. Анализируемый объект – штамм со своей таксономической характеристикой, также является точкой в этом многомерном пространстве и исследуется на близость к каждой эталонной точке. Расстояние рассчитывается по формуле:

$$D_j = \sqrt{\sum_{i=1}^{24} (X_{ji} - X_i)^2}$$

где D_j – евклидово расстояние между неизвестным (идентифицируемым) штаммом и j -тым микроорганизмом в 24-мерном пространстве;

j – номер известного микроорганизма,

i – номер анализируемого признака,

X_{ji} – значение i -того признака j -того микроорганизма.

Таким образом, в программе формируется идентификационная таблица: название микроорганизма, значения вероятностей активности для 24 тестов. При составлении таблицы проводится предварительная стандартизация переменных: вместо значений от 0 до 10 записывается «1», диапазону значений от 11 до 25 ставится в соответствие «2», от 26 до 75 – «3», от 76 до 89 – «4», от 90 до 100 – «5». Далее программируется методика: выбирается цвет положительной и отрицательной реакции, местоположение каждого фермента, используемого в тест-системе. В рабочем окне программы формируется субстратный профиль с помощью условных обозначений «+», «-» или «?». И, наконец, проводится аналитическая обработка результатов. Программа NewId интерпретирует полученный набор данных из символьного в числовой ряд, и для каждого микроорганизма из таблицы находится евклидово расстояние по формуле. Полученный массив данных нормируется, представляется в виде коэффициента подобия и выстраивается в порядке убывания. Первые четыре элемента массива выводятся в отчет (рис 1-3).

Нами было идентифицировано 53 штамма с помощью разработанных нами тест-системы «ИД-ЭНТЕР» с программным обеспечением «NewId». Параллельно проводилась идентификация с помощью тест-систем производства «BioMerieux» с программным обеспечением на основе нумерического подхода.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Дата анализа: 20.05.2010
 № планшета:
 Методика: ENTEROstrip24

ШТАММ №: 1 код:
 профиль: URE + LARL - GAT - MAN - MAL - IND ? bNAG - bGAL - GLU + SAC - LARA - DARL -
 aGLU - aGAL - TRE + RHA - INO - ADO - PLE - CEL - SOR - MNT - KSI + DLC -

Proteus mirabilis	0/23	1.8099999999999996	0.9583333333333303
Providencia stuartii	3 URE INO KSI/20	51.209999999999998	0.740740740740875
Pseudomonas fluorescens	3 URE GLU TRE/20	52.01	0.740740740740875
Morganella morganii ssp morganii	2 TRE KSI/21	57.009999999999998	0.807692307692378

РЕЗУЛЬТАТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Дата анализа: 20.05.2010
 № планшета:
 Методика: ENTEROstrip24

ШТАММ №: 2 код:
 профиль: URE - LARL - GAT + MAN + MAL + IND + bNAG - bGAL + GLU + SAC - LARA + DARL -
 aGLU - aGAL + TRE + RHA + INO - ADO - PLE - CEL - SOR - MNT - KSI + DLC -

Escherichia coli	0/21	10.5	0.875
Citrobacter youngae	2 IND DLC/21	34.25	0.807692307692378
Citrobacter amalonaticus/frameri	2 CEL SOR/21	41.25	0.807692307692378
Escherichia hermannii	2 aGAL CEL/22	44	0.846153846154266

РЕЗУЛЬТАТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Дата анализа: 20.05.2010
 № планшета:
 Методика: ENTEROstrip24

ШТАММ №: 3 код:
 профиль: URE + LARL - GAT - MAN - MAL - IND ? bNAG - bGAL - GLU + SAC - LARA - DARL -
 aGLU - aGAL - TRE - RHA - INO - ADO - PLE - CEL - SOR - MNT - KSI - DLC -

Pseudomonas aeruginosa	1 MNT/21	15.01	0.840000000000146
Acinetobacter/Moraxella spp	1 GLU/21	23.26	0.840000000000146
Morganella morganii ssp morganii	0/23	25.009999999999998	0.958333333333303
Acinetobacter baumannii	2 URE LARA/20	31.01	0.769230769230489

Рис. 1-3. Полученные элементы массива.

Полное совпадение результатов в двух программах с точностью до вида – 88%. Соответственно приводим пример для иллюстрации идентификации клинического изолята 405/98. Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMerieux»

Pseudomonas fluorescens, с процентом идентификации 51,6. При использовании программы «New Id», которая так же дает результат *P. fluorescens*, коэффициент подобия 0,92, наименьшее евклидово расстояние 11. Противоречит определению данного вида микроорга-

низма положительный тест утилизации глюкозы в двух программах.

При анализе результатов процент совпадений с точностью до рода и вида в двух программах - 97%. В данном случае возможно совпадение только рода и характерен следующий пример идентификации клинического изолята 404/98. Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMérieux», – *Enterobacter cloacae* с процентом идентификации 88,9. Противоречит определению данного вида микроорганизма положительный тест утилизации калия-5-кетоглюконата. При использовании программы «New Id» результат идентификации – *Enterobacter amnigenus*, коэффициент подобия 0,91, наименьшее евклидово расстояние 9,5 (тест утилизации калия-5-кетоглюконата в данной тест-системе отсутствует); а на втором месте определяет *Enterobacter cloacae* с коэффициентом подобия 0,87, наименьшим евклидовым расстоянием 10,75.

Полное несовпадение результатов идентификации в обеих программах составило 3%. В качестве примера приводим идентификацию клинического изолята 442/983. Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMérieux», – *K. terrigena* с процентом идентификации 99,8. Противоречит определению данного вида микроорганизма положительный тест утилизации натрия пирувата. При использовании программы «New Id» результат идентификации – *Enterobacter aerogenes*, коэффициент подобия 0,92, наименьшее евклидово расстояние 18 (тест утилизации натрия пирувата в данной тест-системе отсутствует). Противоречит определению данного вида микроорганизма отрицательный тест при определении галактозидазной активности.

Заключение

В результате проведенного исследования разработана тест-система «ИД-ЭНТЕР» для идентификации энтеробактерий, которая включает 24 теста на расщепление дегидрированных субстратов с добавленным индикатором и хромогенных субстратов, после вне-

сения микробной взвеси (рис. 4). Для учета результатов в автоматическом режиме в качестве ридера адаптирован фотометр, изготовленный на РУПП «Витязь» (АИФ-М/340, Ф300), для определения цвета пробы. С целью идентификации энтеробактерий разработана и зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности программа NewId многомерной статистики (совместно с ВТЗ «Витязь») с применением кластерного анализа (регистрационный № 015 от 13.02.08), которая обеспечивает полное совпадение результатов в сравнении с программным обеспечением «BioMérieux» с точностью до рода и вида – 97%.



Рис.4. Тест-система «ИД-ЭНТЕР».

Программа NewId позволяет создать автоматизированное рабочее место микробиолога, включающее в себя фотометр, адаптированный для анализа результатов по цвету пробы в автоматическом режиме, и персональный компьютер.

Литература

1. Антибактериальная терапия в гнойной хирургии: руководство / под ред. А.Н. Косинца. – Витебск: ВГМУ, 2002. – 600 с.
2. Джадд, Д. Цвет в науке и технике: пер. с англ. / Д. Джадд, Г. Вышецки, под ред. Л. Ф. Артюшина. – М., 1978.

3. Лучшев, В.И. Динамика инфекционной заболеваемости в Москве / В.И. Лучшев, Н.А. Малышев / Рос. мед. журн. – 1999. – №1. – С. 3-7.
4. Окулич, В.К. Оценка чувствительности микроорганизмов к антибиотикам с помощью тест-систем «АВ – Стаф», «АВ – Пев», «АВ – Энтер» / В.К. Окулич, С.Д. Федянин // Медицинская панорама. – 2002. – №8 – С.19.
5. Определитель бактерий Берджи: в 2 т.: пер. с англ. / под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т.1 – С. 180-196.
6. Окулич, В.К. Анализ спектра микробной флоры и резистентности к антибиотикам у пациентов с хирургической инфекцией / В.К. Окулич, А.Н. Косинец, С.Д. Федянин // Вестн. ВГМУ. – Витебск, 2003. – Т. 2., №2. – С. 37-44.
7. Конопелько, Е.А. Рациональные подходы к выбору антибиотиков с учетом минимальных подавляющих концентраций для лечения хирургических инфекций, вызываемых энтеробактериями // VI Междунар. конф. Студенческая медицинская наука XXI века. – Витебск, 2006. – С. 28-30.
8. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под общ. ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – М., 2002. – 300 с.
9. Руководство по статистике в медицине и биологии: в 2 т. / под ред. Ю.М. Комарова. – М.: Медицина, 2001. – С. 282-338.
10. Руководство по инфекционным болезням / под ред. В.И.Покровского, К.М.Лобана. – М.: Медицина, 1996. – 464 с.
11. Фотт, Н.П. Обоснование использования кластерного анализа для видовой идентификации стафилококков / Н.П. Фотт, О.С. Бравичева // Вестн. ОГУ. – 2002. – № 3. – С. 132-134.
12. Bowler, P.G. Wound microbiology and associated approaches to wound management / P.G. Bowler, B.I. Duerden, D.G. Armstrong // Clin. Microb. Rev. – 2001. – Vol. 14, N 2. – P. 244-269.
13. Croize, J. Evaluation of a new ministurized and Automated Sistem / J. Croize, M. Desmonceaux // Meeting, Atlanta, May 16-20th 1993. – Atlanta, 1993. – Abst. – P. 302.
14. Desmonceaux, M. IDE: A new 24-Hour Semi-automated System for Gram Negatiwe Rods.(1993) ASM / M. Desmonceaux // Annual Meeting, May 16-20th, Atlanta. – Abst. – P. C 301.
15. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / M. George [et al.] // The Proteobacteria. 2nd ed. – 2005. – Vol. 2.
16. Monnet, D. Ewaluation of Semi-Automated 24 Hour Commercial System for Identification of Enterobacteriaceae and other Gram-Negative Bacteria. / D. Monnet, D. Lafay // Eur. Of Clin. Microbiol. Infect.Dis. – 1994. – Vol. 13. – P. 424-430.
17. Murray, P.R. Manual of Clinical Microbiology / P.R. Murray, E.J. Baron // American Society for Microbiology. – 8th Edit. – Washington, 2003.
18. Spectrum of microbes and antimicrobial resistance in a surgical intensive care unit, Barbados / S. Hariharan [et al.] // Am. J. Infect. Cjntrol. – 2003. – Vol. 31, N 5. – P. 280-287.

*Поступила 02.06.2010 г.
Принята в печать 02.09.2010 г.*